

一种新型高选择性检测镁离子的荧光增强型探针*

李 娜 向 宇 童爱军**

(清华大学化学系, 北京, 100084)

摘 要 合成了一种新的镁离子荧光探针 1(α -(喹啉-8-氧基)-乙酰水杨醛腙) (α -(quinolin-8-yl)-acetylsalicyl hydrazone). 探针 1 的乙醇溶液只发非常微弱的荧光, 加入镁离子后在 400—500 nm 的波长范围可以观察到 65 倍的荧光增强, 而加入其它碱金属或碱土金属离子则不会引起荧光光谱的显著变化. 经测定探针 1 与镁离子以 1:1 的比例络合, 结合常数可以达到 $1.7 \times 10^7 (\text{mol L}^{-1})^{-1}$.
关键词 荧光增强, 分子探针, 镁离子, 水杨醛腙.

由于荧光探针往往具有高选择性, 易实现可视化和实时检测, 目前已被越来越多地应用于多种复杂生物、环境样品中的金属离子检测及成像分析^[1-2]. 镁是地球上含量最为丰富的几种元素之一, 镁离子是细胞中含量最高的二价金属离子^[3]. 镁离子在临床医学, 营养学和生理学中的作用已经引起人们的广泛关注^[4]. 因此, 开发新型、高效的镁离子荧光探针的研究已成为该领域备受关注的热点之一^[5-10]. 然而, 与已经报道的大量钙离子荧光探针相比, 性能优异的镁离子荧光探针仍然较少^[11]. 许多已报道的镁离子荧光探针都是基于人们熟悉的冠醚、多醚或羧酸结构^[10-12], 由于这类探针对钙离子比对镁离子有更强的络合能力, 导致大部分镁离子探针在检测时会受到钙离子的干扰^[13-14]. 因此, 研究新的高选择性的荧光探针检测镁离子具有非常重要的意义^[14-15].

水杨醛腙结构对金属离子具有很强的络合能力. 在本课题组已报道的金属离子荧光探针研究中, 将水杨醛腙与罗丹明 B 染料结合获得了对铜离子具有高选择性高灵敏度的荧光探针^[16]. 8-羟基喹啉是一种人们熟知的金属离子络合基团, 在荧光分子探针的设计中已被广泛使用^[17].

本文将 8-羟基喹啉与水杨醛腙相结合, 设计合成了一种对镁离子具有高选择性和灵敏度的荧光探针, 实现了对乙醇溶液中镁离子的定量检测.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

日本 JASCO V-550 型紫外-可见分光光度计, 日本 JASCO FP-6500 型荧光光谱仪, JOEL JNM-ECA300 型核磁共振波谱仪, HP 1100 型质谱仪.

实验所用试剂均购自北京化学试剂公司, 均为分析纯. 使用二次蒸馏水. 将含有金属离子的盐 ($\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, LiCl , NaCl , KCl , CaCl_2 , $\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, AgNO_3 , ZnCl_2 , $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 溶解于水中, 配成 0.02 mol L^{-1} 的储备液, 然后用乙醇逐级稀释到需要的浓度. 除特殊说明外, 镁离子盐采用 $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$. 所有的光谱测定都在 25 °C 的乙醇溶液中进行.

1.2 实验方法

准确移取 3.00 mL 纯乙醇溶液于 1 cm 荧光池中, 加入 30 μL , 1.0 mmol L^{-1} 染料溶液, 摇匀, 测定紫外-可见或荧光光谱. 再加入一定量的金属离子溶液, 摇匀, 静置 2 min, 测定其紫外-可见及荧光光谱.

1.3 试剂合成

化合物 1, 2, 3 根据文献合成^[18-19], 结构如下:

2010 年 3 月 17 日收稿.
* 国家自然科学基金项目 (20875054 和 90813014) 资助.
* * 通讯联系人, Tel 010-62787682; E-mail tonga@mails.tsinghua.edu.cn



2 结果与讨论

2.1 探针与 Mg²⁺ 络合引起的紫外-可见及荧光光谱变化

图 1 为 Mg²⁺ 加入到探针 1 的乙醇溶液中所引起的吸收光谱变化. 从图 1 中可以观察到, 随着 Mg²⁺ 的加入, 吸收光谱在 332 nm 和 280 nm 处的吸收峰逐渐降低, 并在 380 nm 处形成新的吸收峰. 如图 2 所示, 探针分子 1 本身在乙醇溶液中只有非常微弱的荧光, Mg²⁺ 的加入可以使荧光显著增强, 在等吸收点 345nm 处激发时, 等当量的 Mg²⁺ 的加入可以引起荧光强度增加 65 倍 (图 3). 紫外光谱和荧光光谱的滴定实验同时证实了 Mg²⁺ 和探针分子以 1:1 的结合比形成络合物.

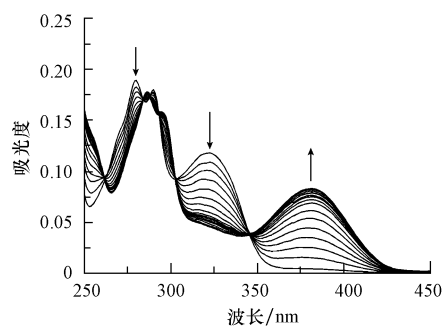


图 1 Mg²⁺ 与探针分子 1 结合的吸收光谱变化
溶剂: 乙醇; [探针 1] = 10 μmol L⁻¹,
[Mg²⁺] = 0–50 μmol L⁻¹

Fig 1 Absorption spectra of chemosensor 1 in the presence of different amount of Mg²⁺

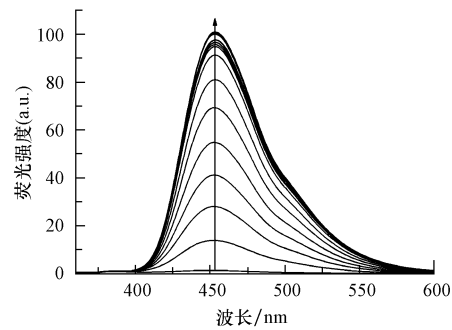


图 2 Mg²⁺ 与探针分子 1 结合的荧光光谱变化
溶剂: 乙醇; [探针 1] = 10 μmol L⁻¹,
[Mg²⁺] = 0–50 μmol L⁻¹

Fig 2 Fluorescence spectra of chemosensor 1 in the presence of different amount of Mg²⁺

2.2 探针 1 对金属离子的选择性

探针 1 的乙醇溶液中分别加入不同的碱金属或碱土金属离子所引起的荧光强度变化如图 4 所示, 只有 Mg²⁺ 可以引起显著的荧光增强现象, 加入 10 倍量的碱金属离子不会引起明显的光谱变化, 也不会干扰 Mg²⁺ 的响应. 碱土金属中 Ca²⁺ 的加入会带来一定程度的荧光增强, 但其强度远小于 Mg²⁺, 10 当量的 Ca²⁺ 引起的荧光增强倍数仅为 1 当量 Mg²⁺ 的 30%. 探针 1 的乙醇溶液中同时存在 10 当量 Ca²⁺ 和 1 当量 Mg²⁺ 时, 会对 Mg²⁺ 的响应有一定影响, 但当 Ca²⁺ 和 Mg²⁺ 浓度相同时, 这种影响就变得非常微弱. 除 Ca²⁺ 之外的其它碱土金属离子既不会引起显著的光谱变化也不会干扰 Mg²⁺ 的响应. 然而, 对于一些过渡金属离子, 如 Ag⁺, Pb²⁺, Ni²⁺ 和 Cu²⁺ 可以淬灭探针分子的荧光, 所以会在一定程度上影响 Mg²⁺ 的检测. 此外, Zn²⁺ 可以引起一定强度的荧光增强, 10 当量的 Zn²⁺ 引起的荧光增强倍数为 1 当量 Mg²⁺ 的 20%. 文献中已经报道大多数 Mg²⁺ 荧光探针都会受到重金属离子的干扰. 但在实际检测中, 如食品、细胞等样品, 重金属离子含量很少, 不影响分析测定. 所以在评价探针性能时一般都比较探针对于碱金属和碱土金属离子的选择能力. 常见阴离子, 如 Cl⁻, SO₄²⁻, NO₃⁻, CD₄⁻ 等对探针 1 检测 Mg²⁺ 不产生干扰.

通过 Job's plot 法测定了 Mg²⁺ 和 Ca²⁺ 与探针分子的结合比, 发现两者均与探针 1 形成 1:1 的络合物 (图 5). 通过对紫外滴定曲线进行非线性拟合 (图 6), 得到探针分子 1 与 Mg²⁺ 和 Ca²⁺ 的结合常数分别是 1.7 × 10⁷ (mol L⁻¹)⁻¹ 和 2.6 × 10⁶ (mol L⁻¹)⁻¹, 可见探针分子 1 对 Mg²⁺ 的络合能力强于 Ca²⁺, 这

使得探针 1 优于以往受到 Ca^{2+} 强烈干扰的 Mg^{2+} 探针.

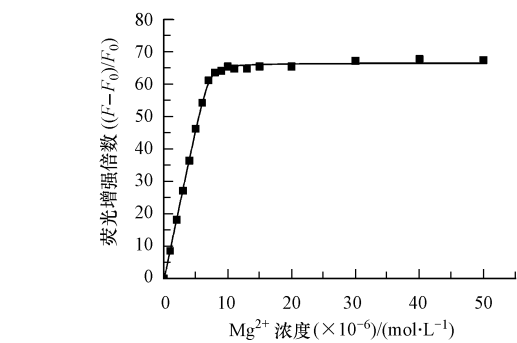


图 3 荧光强度 (453 nm) 随 Mg^{2+} 浓度变化
溶剂: 乙醇; [探针 1] = $10\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$,
[Mg^{2+}] = $0\text{--}50\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$

Fig 3 Fluorescence enhancement factor $(F - F_0) / F_0$ as a function of Mg^{2+} concentration

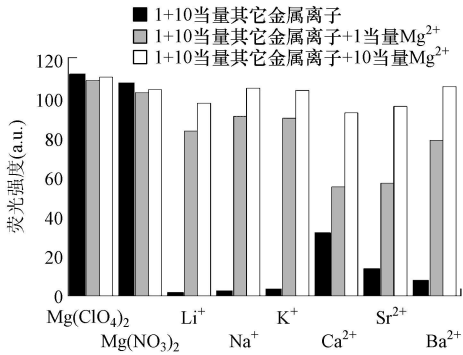


图 4 探针分子 1 对不同金属离子的选择性
溶剂: 乙醇; [探针 1] = $10\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$,
激发波长: 345 nm; 发射波长: 453 nm

Fig 4 Fluorescence intensity of chemosensor 1 in the presence of various metal ions

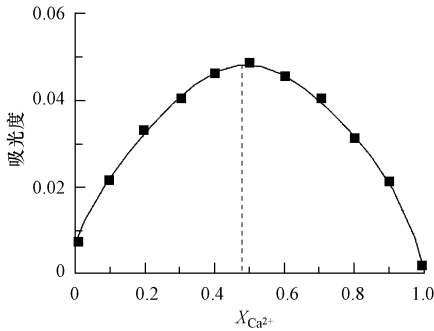
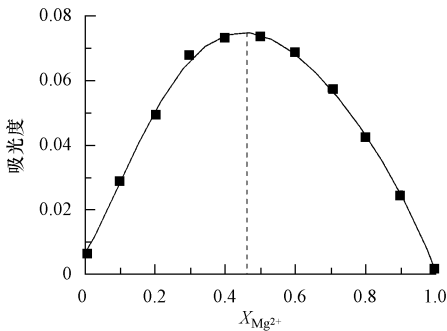


图 5 用 Job's plot 方法测定 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 与探针分子 1 的结合比
溶剂: 乙醇; [探针 1] + [Mg^{2+}] = $20\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$, 吸收波长: 380 nm

Fig 5 Job's plot of chemosensor 1 and Mg^{2+} or Ca^{2+} using absorbance at 380 nm

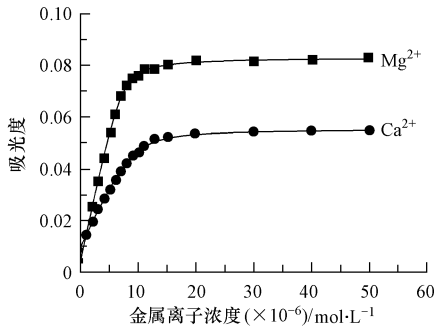


图 6 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 浓度对探针 1 在 380 nm 处吸光度的影响
溶剂: 乙醇; [探针 1] = $10\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$, [Mg^{2+}] = $0\text{--}50\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$, [Ca^{2+}] = $0\text{--}50\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$

Fig 6 Absorbance of chemosensor 1 upon the addition of Mg^{2+} and Ca^{2+}

2 3 参比化合物的性质研究

合成了化合物 2 和 3 作为参比化合物. 相比于探针 1, 化合物 2 缺少水杨醛脲结构, 而化合物 3 合成时用苯甲醛代替水杨醛, 所以结构中没有酚羟基结构. 在化合物 2 和 3 的乙醇溶液中加入 Mg^{2+} , 没有检测到明显的紫外及荧光光谱变化 (图 7、8). 从参比化合物的实验可以看出水杨醛脲的酚羟基结构在探针分子与 Mg^{2+} 络合时起到至关重要的作用.

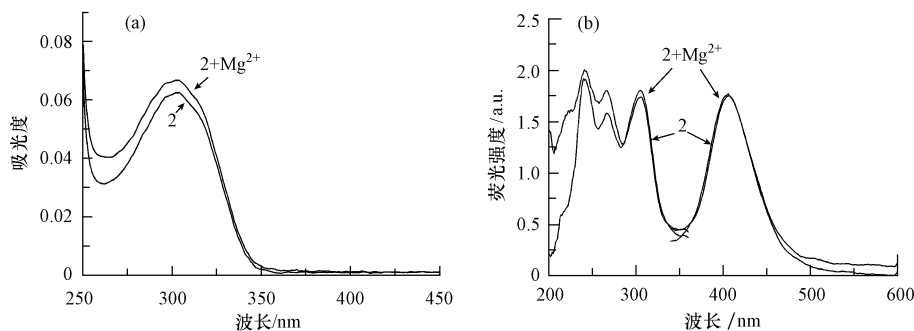


图 7 Mg^{2+} 对化合物 2 吸收光谱 (a) 和荧光光谱 (b) 的影响

溶剂: 乙醇; [化合物 2] = $10 \mu\text{mol L}^{-1}$, [Mg^{2+}] = $10 \mu\text{mol L}^{-1}$

Fig 7 Absorption spectra (a) and Fluorescence spectra (b) of compound 2 in the absence or presence of Mg^{2+}

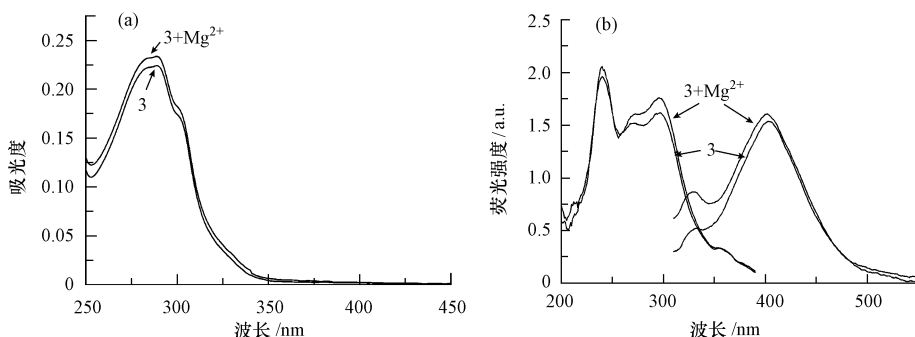


图 8 Mg^{2+} 对化合物 3 吸收光谱 (a) 和荧光光谱 (b) 的影响

溶剂: 乙醇; [化合物 3] = $10 \mu\text{mol L}^{-1}$, [Mg^{2+}] = $10 \mu\text{mol L}^{-1}$

Fig 8 Absorption spectra (a) and Fluorescence spectra (b) of compound 3 in the absence or presence of Mg^{2+}

3 结论

设计合成了一种新的 Mg^{2+} 荧光探针 1, 探针 1 能与 Mg^{2+} 以 1:1 的比例络合. 在探针 1 的乙醇溶液中加入 Mg^{2+} 会引起探针分子显著的吸收光谱变化和荧光增强现象. 不同于以往 Mg^{2+} 的荧光探针, 探针分子 1 对 Ca^{2+} 的络合能力低于 Mg^{2+} , 并且其它金属离子的干扰小, 因此对 Mg^{2+} 具有很好的选择性.

参 考 文 献

- [1] de Silva A P, Gunaratne H Q N, Gunnlaugsson T, et al. Signaling recognition events with fluorescent sensors and switches [J]. Chem Rev, 1997, 97 (5): 1515-1566
- [2] Callan J F, de Silva A P, Magri D C. Luminescent sensors and switches in the early 21st century [J]. Tetrahedron, 2005, 61 (36): 8551-8588
- [3] Maguire M E, Cowan J A. Magnesium chemistry and biochemistry [J]. BioMetals, 2002, 15 (3): 203-210
- [4] Saris N E L, Mervaala E, Kapranen H, et al. Magnesium—an update on physiological, clinical and analytical aspects [J]. Clin Chim Acta, 2000, 294 (1/2): 1-26
- [5] Hama H, Morozumi T, Nakamura H. Novel Mg^{2+} -responsive fluorescent chemosensor based on benzor 15-crown-5 possessing 1-naphthaleneacetamidomoiety [J]. Tetrahedron Lett, 2007, 48 (10): 1895-1861
- [6] Famuggia G, Iotti S, Prodi L, et al. 8-hydroxyquinoline derivatives as fluorescent sensors for magnesium in living cells [J]. J Am Chem Soc, 2006, 128 (1): 344-350
- [7] Suzuki Y, Komatsu H, Ikeda T, et al. Design and synthesis of Mg^{2+} -selective fluorionophores based on a coumarin derivative and application for Mg^{2+} measurement in a living cell [J]. Anal Chem, 2002, 74 (6): 1423-1428
- [8] Capitaru Vallvey L F, Fernandez-Ramos M D, Lapresta-Fernandez A, et al. Magnesium optical one shot sensor based on a coumarin chromionophore [J]. Talanta, 2006, 68 (5): 1663-1670

- [9] Watanabe S, Ikishina S, Matsuo T, et al. A Luminescent metallo receptor exhibiting remarkably high selectivity for Mg^{2+} over Ca^{2+} [J]. J Am Chem Soc, 2001, 123 (34): 8402-8403
- [10] 张灯青. 镁离子荧光探针 [J]. 化学进展, 2009, 21 (4): 715-723
- [11] Komatsu H, Iwasawa N, Citterio D, et al. Design and synthesis of highly sensitive and selective fluorescein-derived magnesium fluorescent probes and application to intracellular 3D Mg^{2+} imaging [J]. J Am Chem Soc, 2004, 126 (50): 16353-16360
- [12] Song K C, Choi M G, Ryu D H, et al. Ratimetric chemosensing of Mg^{2+} ions by a calix[4]arene diamide derivative [J]. Tetrahedron Lett, 2007, 48 (31): 5397-5400
- [13] Prodi L, Bolletta F, Montalti M, et al. A fluorescent sensor for magnesium ions [J]. Tetrahedron Lett, 1998, 39 (31): 5451-5454
- [14] Mashraqui S H, Sundaram S, Bhaskutan A G, et al. Novel fluorionophores incorporating diaryl 1, 3, 4-oxadiazole and azacrown ring. Potentially sensitive Mg^{2+} Ion sensor [J]. Sens Actuator B-Chem, 2007, 122 (2): 347-350
- [15] Yang Q Z, Wu L Z, Zhang H, et al. A luminescent chemosensor with specific response for Mg^{2+} [J]. Inorg Chem, 2004, 43 (17): 5195-5197
- [16] Xiang Y, Tong A J, Jin P Y, et al. A New fluorescent rhodamine hydrazone chemosensor for $Cu(II)$ with high selectivity and sensitivity [J]. Org Lett, 2006, 8 (13): 2863-2866
- [17] Bronson R T, Montalti M, Prodi L, et al. Origins of "on/off" fluorescent behavior of 8-hydroxyquinoline containing chemosensors [J]. Tetrahedron, 2004, 60 (49): 11139-11144
- [18] Popov L D, Tupolova Y P, Levenkov S I, et al. Magnetic properties of copper(II) complexes with some hydrazones of substituted salicylaldehydes [J]. Russ J Coord Chem, 2007, 33 (3): 208-212
- [19] Chandrasekhar, Bhat A R. Synthesis of derivatives of oxine and benzimidazoles for antimicrobial and other biological profiles [J]. Indian J Heterocycl Chem, 1995, 5 (2): 111-114

A HIGHLY SELECTIVE CHEMOSENSOR FOR MAGNESIUM BY FLUORESCENCE ENHANCEMENT

LIN a XIANG Yu TONG A ijun

(Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

ABSTRACT

A new fluorescent chemosensor α -(quinolin-8-yloxy)-acetyl salicyl hydrazone (1) was found to display fluorescence enhancement response selective for Mg^{2+} over other common alkali and alkaline earth metal ions (Li^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Sr^{2+} , and Ba^{2+}) in ethanol. In the absence of metal ions, chemosensor 1 exhibited little fluorescence emission. Upon the addition of Mg^{2+} , a 65-fold fluorescence enhancement in the range of 400—500 nm was observed and a 1 : 1 metal-ligand complex was formed. The binding constants for chemosensor 1- Mg^{2+} was $1.7 \times 10^7 (mol L^{-1})^{-1}$.

Keywords fluorescence enhancement; chemosensor; magnesium; salicyl hydrazone.